

論文 Original Paper

米ヌカ油鑑別法の研究

竹下 安日児^{*1}・岩田 文男^{*2}・吉田 治郎^{*3}・日向 一夫^{*4}

Study on the Identification of Rice Bran Oil

By Yasuhiko Takeshita^{*1}, Fumio Iwata^{*2}, Haruo Yoshida^{*3} and Kazuo Hinata^{*4}

Synopsis: As the identification method of rice bran oil, the detection with TLC and UV spectroscopy was adopted in JOCS standard analytical method. However, authors have appealed the conveniently and industrially superior methods. Those are Emery Engels color test and checking the U.S.M. of sample by G.L.C.

要旨: 米ヌカ油の鑑別法には日本油化学協会で公式に採用されたフェルラ酸成分の検出法があるが、著者らはこの方法より簡単なエメリー・エンゲル法による呈色と、さらに基本的な不けん化物の組成、特に炭化水素、トリテルペンアルコールならびにステロールの総合的な組成による鑑別を試みた結果を新しい鑑別法として提案したので報告する。

1. 緒 論

油脂類の鑑別、検出は工業上重要であって、油脂化学のうえでも古くからいろいろな方法が研究され、提案されて来た。すなわち動物油と植物油との区別には動物ステリン、コレステロールのジキトニンによる沈殿反応が用いられ、綿実油の鑑別にはハルフェン氏反応が用いられるなどであったが、近時植物油中にコレステロールが検出されるものも発見され、またハルフェン氏反応のような特異反応中には油脂精製工程の間に特徴が微弱になるものも見出されている。

もちろん、脂肪酸組成や不けん化物含有量の多少なども鑑別のうえで有用で、往時「よう素価」や「けん化価」がおもに化学試験の手法になっていたのに比べて、ガスクロマトグラフィや液体クロマトグラフィなどの発達により、脂肪酸や不けん化物の組成を検さくすることは日常茶飯事のことになった。なお標準の組成の測定値を規格値に用いることは日本農林規格(JAS)や国連FAO、WHOのジョイントミーティングにおける国際規格案においても米国などから提案されている。

しかし脂肪酸組成から混合油脂の組成をしらべること

は、成分油脂の名称が明らかにされているとき、二種程度までの配合比率を算出できるのに止まり、万能な試験法ではない。

古来行われている特異反応などで、一部については現在でも有効なものもあるが、米ヌカ油などではこれまで特異反応で公式に提案されたものが無かった。

そしてこれまで非公式に業界などで各自の知識に基づいて流通していた方法はあった。先般日本油化学協会の油脂試験法に関する委員会では、鑑別法の見直しがなされ、IUPACやAOCSの方式も考慮しながら、新しく系統的な鑑別、検出法の成案を得て、最近刊行した。⁵⁾

米ヌカ油の鑑別、検出法についてはこの委員会から著者らにも諮問があつて、つぎのように答申した。⁶⁾

- a. 米ヌカ油のアルコール、エーテル溶液に水酸化カリウムの溶液を添加したとき、エメリー・エンゲル反応による顕著な黄色の呈色が見られる。この反応はフェノール性OH特有のものとされ、米ヌカ油はアルカリ精製油でもこの呈色を示すので、酸価測定時にも黄色化が認められる。
- b. 米ヌカ油不けん化物のガスクロマトマトグラフィのチャートを他の油脂のそれと比べると特有のパ

^{*1}工学部化学教室，教授，工学博士，技術士
Professor, Chem. Lab.,
Dr. of Engin., Authorized Consulting Engin.

^{*2}米ヌカ油研究家
Rice Bran Oil Engineer

^{*3}工学部化学教室教授
Professor, Chem. Lab.

^{*4}工学部化学教室，技術職員
Technical Staff, Chem. Lab.

ターンが見られ、非公式ではあるが一部で鑑別手法として用いられた例もある。

- c. 米ヌカ油の酸価測定値は指示薬により、原油では1～2、精製油でも0.05程度の差が、アルカリブリュー 6B またはブロームチモールブリュー (B.T.B.) とフェノールフタレイン (P.P.) との間に認められ、その差の原因はフェノール性物質にあることがすでに著者の一人竹下ら²⁾により報告されている。

これに対して、うへの a 項についてはエメリーエンゲル反応はトコフェロールなどに対しても同様な反応があり、b, c 項については文献のうえで学会誌に掲載されたものが無いので見送られて、このたびの油化学委員会では薄層クロマトグラフィでクリーンアップしたフェルラ酸エステルの UV 吸収スペクトルによる検出法が採用された。⁵⁾ フェルラ酸エステルがトウモロコシや麦の胚芽等穀物油脂に米ヌカ油の10分の1以下含まれることは備考として注意されている。然し極度に精製した米ヌカ油中のフェルラ酸成分は、アルカリで中和除去または留去された場合、トウモロコシ胚芽油の原油に比べて却って小さい含有量を示す場合も起るので、これらを一層明確に検定するためには著者らがここにあげる不けん化物のガスクロマトグラムを比較する手法はトウモロコシ胚芽油単味の試料と米ヌカ油単味の試料とを簡単明瞭に見別けるため有用である。

また米ヌカ油の不けん化物は米ヌカ油の採油条件や品種、産地による差異の有無検討の必要があるが、この点についてもここで比較検討した。

2. 実験と結果の概要

2.1 米ヌカ油の不けん化物

市場に流通している油脂類の不けん化物の含有率は一般の植物油脂では1%前後を上限として居り、植物油脂の中ではホホバ油³⁾が高級アルコール (C_{16} または C_{18} などの1価アルコール)の脂肪酸エステルとして抹香脳油にも類似するろうエステルを多量に含むため、大きい不けん化物含量を示す。また動物油、特に海産のさめ肝油などが比較的多量の不けん化物を含有するものがあることも知られている。

これに対し米ヌカ油はワックス分に富み、一価高級アルコールエステルであるワックス分を3%前後含み、オリザノール等フェノール性物質も1～2%含有するため、原油の不けん化物として4～6%、精製油については、2～4%の不けん化物含量が通常である。¹¹⁾

原油や精製油の不けん化物含量は FAO, WHO の国際

Table 1 USM% in Refining Steps R.B.Oil¹¹⁾

No.	Item	Refining Step	USM%
a		Crude Oil	6
b		Alkali Refined	3
c		Dewaxed	3
d		Bleached	3
e		Deodorized	3
f		Dark Oil	8
g		Waxy Oil	9

規格案では天然に含有される不けん化物については規制する必要が無いと定められている。しかし JAS では「こめ原油で6%以下、食用油では3.5%～4.5%」の限度を油の品位に応じて定めている。これらの不けん化物中には、液体のものもあるため「脱ろう工程」だけで完全に除去することは困難で、精製した米サラダ油でも2.5～3.5%の不けん化物含量を示すのが通常である。

したがって米ヌカ油の鑑別のため不けん化物の含量をしらべることは一つの方法ではあるが、さらに不けん化物の成分組成を知ればこの油の特徴を一層くわしく知ることになる。

不けん化物含有量の精製工程による変化は一例をあげると Table 1 のとおりである。¹¹⁾

2.2 不けん化物の組成

脱ろうの際分離されたるろう分の不けん化物の融点は、70°C以上もあるが、原油や精製油の不けん化物は炭化水素やステロイドの混合物で、融点はこれに比べて若干低い値を示し、常温では固体である。

ガスクロマトグラフィでいろいろな経歴の米ヌカ油の不けん化物の組成をしらべた結果は Fig. 1 および Table 4 のとおりである。⁷⁾

すなわち Table 2 に60°～30°～10°Cと抽出条件の異なる米ヌカ原油の組成を示した。溶剤抽出を高温下にするほど不けん化物含有量%は増加した。よう素価及びけん化価も不けん化物の増加に従って少しずつ変化した。つぎに Table 3 に示すようにそれぞれの溶剤抽出条件に応じて GLC のチャートから見られる脂肪酸組成の変化が極めて僅かに、特に飽和脂肪酸について存在したが、全体として見るべきものは無かった。

以上に対応した不けん化物の組成は Table 4 のカンペステロールの僅かな差のほか、全体としてチャートのパターンを変える程の差異は見られなかった。

同一の原油に対しての精製工程の進行に伴ない処理油の不けん化物含量%に差があることは前に述べたが、処理油中の不けん化物の組成は精製工程の進行による差異

Table 2 Properties of extracted rice bran oil.⁷⁾

Sample	Appearance	Color	S. V.	I. V.	U. S. M. %	AV
A(60°C ext.)	semi-solid	brown	183	102	8	29
B(30°C ext.)	partly solid	yellowish brown	185	105	7	30
C(10°C ext.)	liquid	yellowish green	186	106	6	30

Table 3 Fatty acid composition of rice bran oil. (%)⁷⁾

Sample	C ₁₄	C ₁₆	C ₁₆ ⁻	C ₁₈	C ₁₈ ¹⁻	C ₁₈ ²⁻	C ₁₈ ³⁻	C ₂₀	C ₂₀ ¹⁻	C ₂₂
A	0.3	18.1	0.1	1.6	40.4	36.6	1.4	0.7	0.5	0.3
B	0.3	18.3	0.1	1.6	40.7	36.6	1.4	0.7	0.5	?
C	0.2	17.8	0.1	1.3	42.2	37.1	1.4	0.7	0.5	0
Industrial	0.3	18.7	?	1.6	40.1	37.1	1.2	0.7	0.4	?

EGA 15% Uniport 13 (Column temp. 190°C), GLC

Table 4 GLC of U.S.M. of rice bran oil. (UNIT: %)⁷⁾

Sample	H.C, Alc.	Sterols			Cyclo-altanol	Cyclo-altanol	24-methyl-ene cyclo-altanol	Cyclo-branol
		Campe.	Stigma.	β -sito.				
A	14.6	15.6	5.2	24.6	6.8	12.1	17.1	3.1
B	12.3	12.0	4.7	23.6	6.7	12.0	25.3?	2.4
C	10.0	12.1	5.4	27.2	7.9	14.5	16.5	2.9
Industrially Ext. Oil	14.2	15.5	5.7	25.7	6.6	12.7	16.5	2.6

Table 5 Fatty Acid Composition of Overseas Rice Bran Oils. (GLC)⁸⁾

Samples (extracted oils)	Kind of F.A.	C ₁₄ ⁻⁰	C ₁₆ ⁻⁰	C ₁₆ ⁻¹	C ₁₈ ⁻⁰	C ₁₈ ⁻¹	C ₁₈ ⁻²	C ₁₈ ⁻²	C ₂₀ ⁻⁰	C ₂₀ ⁻²	C ₂₂ ⁻⁰	(Remarks) GLC column
1 Pakistan IRRI-6		0.2	21.2	0.1	1.9	41.7	30.5	1.0	1.7	0.7	—trace— (0.2<)	EGA
2 " Basmati		0.4	20.4	0.1	2.2	45.4	29.3	1.1	0.9	0.4	—trace— (0.3<)	EGA
3 " (EPL) Industrially extd.		0.4	14.4	0.1	1.8	47.7	33.1	1.2	0.6	0.6	—trace— (0.1<)	EGA
4 China (main land)		0.3	17.5	0.1	1.7	41.8	36.3	1.5	0.7	0.4	trace	EGA
5 " (Taiwan)		0.2	16.4	—	1.9	44.2	35.3	←	2.1	→	—	DEGS (refined oil)*
6 Burma		0.3	17.8	—	1.8	43.8	34.8	1.1	0.4	0.1	—	DEGS (manual)
7 U. S. A. Texas		0.3	14.9	—	1.6	46.3	35.0	1.0	0.6	0.4	trace	EGA
8 " California		0.3	14.1	—	1.6	41.5	39.7	1.6	0.8	0.4	trace	EGA
9 Australia		0.3	14.8	—	1.5	40.7	39.7		0.6	1.7	trace	DEGS (manual)
10 Indonesia		—	16.0	—	1.8	42	31	1.0		(C ₁₈ ⁻³ +C ₂₀ ⁻¹)		EGA (Crude oil)
11 Thailand		0.4	21.0	0.1	2.1	45.1	28.9	1.1	0.8	0.4	—	EGA
12 Japan		0.3	18.0	0.2	1.7	39.9	37.1	1.6	0.7	0.7	trace	EGA

が見られないことは著者ら¹¹⁾のほか後に松本ら¹⁰⁾も報告している。従ってこれの検討はここでは省略した。

つぎに産地や品種別の米ヌカ原油中の不けん化物⁸⁾等はどのような差異を示すか、著者らの人手した各種の米ヌカないし抽出原油についてしらべた結果は Table 5 に脂肪酸組成を、そして Table 6 にそれぞれの大部分の試料についての不けん化物の組成の GLC による分析結果を示す。

産地別の各サンプルは工業上の目的を主として、すなわち油脂溶剤抽出原料としての品質をチェックするために著者のうち竹下および岩田が蒐集したものである。また溶剤抽出は工業的方法に合致させるため主としてヘキサン抽出に依った。工業的抽出油の試料は50°C付近での日本産米ヌカの抽出油である。

実験に使用したガスクロマトグラフは日立 K53 型 FID ならびに島津 GC7AG 型に島津クロマトパック CR-1A 等のインテグレータを結合して分析した。

脂肪酸組成の分析には特記しない限りステンレスカラ

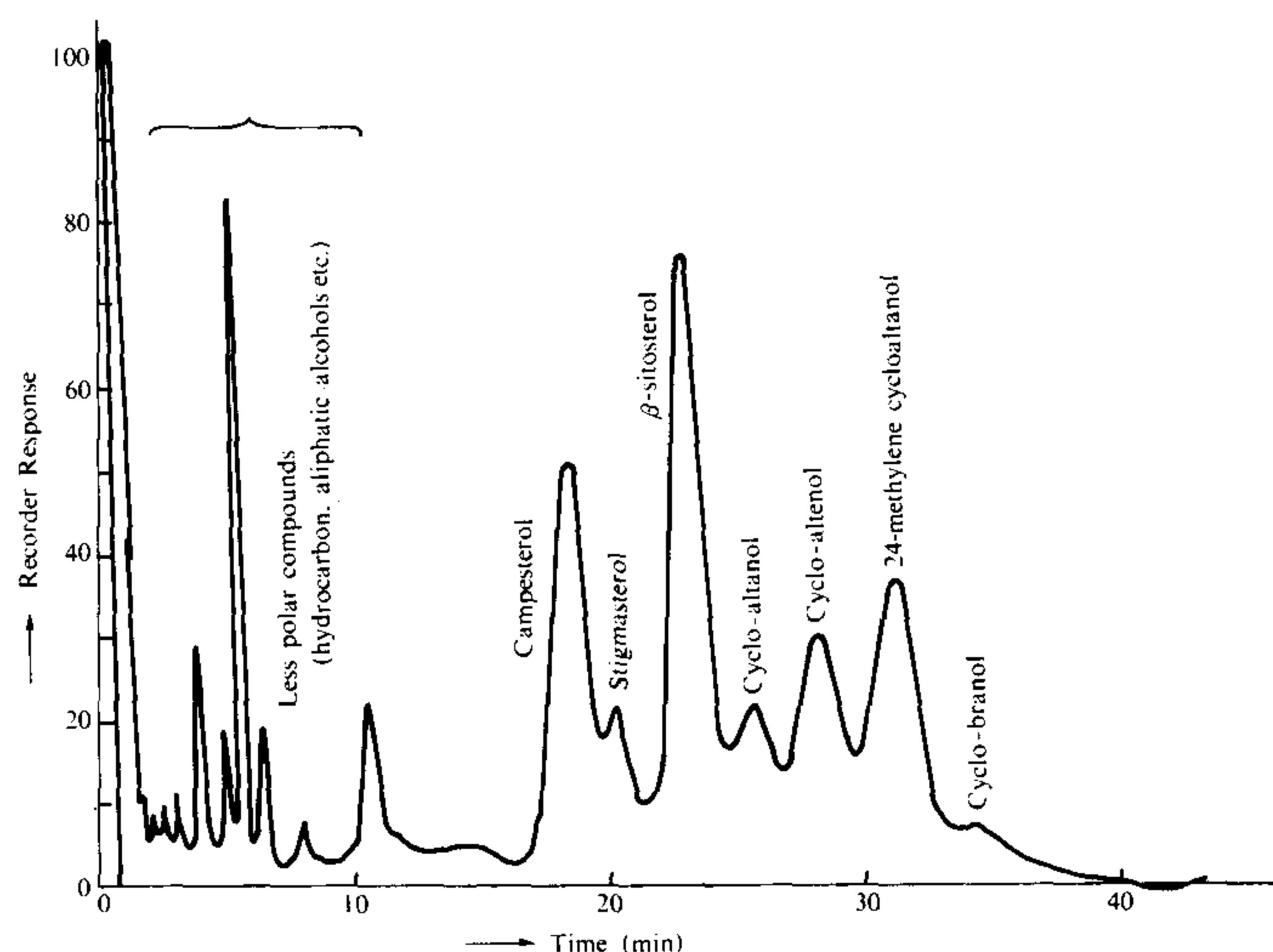


Fig. 1 GLC Chart of USM of Rice bran Oil

ム 2 m または I.D. 2 m/m×12 m ガラスカラムに充てん剤, EGA 15%, Uniport B (80606-101) を用い, カラム温度, 190°C, 試料挿入温度240°Cを中心として分析した。

不けん化物の GLC については OV-17, Chromosolb DMCS, WAW 60~80メッシュ, または OV-1 について同様の条件を用い, カラム温度260°C, 試料挿入温度310°Cとして比較した。

3. 考 察

以上の実験結果を見ると米ヌカ油は製油における抽出温度等の条件, 稲の品種および産地別などによる原油の性状ならびに精製工程における油脂の性状の差は多少見られる。しかし鑑別に関係する不けん化物は, 製油上のいろいろな条件や工程別による含有量%の大小にかかわらず組成の変化はほとんど見られない特徴がある。^{10), 11)}しかし産地や品種によってトリテルペンアルコールやステロールの比率, すなわち部分的差異がインドシナ産の米ヌカの不けん化物におけるシクロアルテノールが GLC のピークで見られないなどの点に存在したがこれを不けん化物全体の GLC パターンとして, トウモロコシ胚芽油など油化学上の性質が比較的近いものと比較すると鑑別上支障があるような大きい差は無い。

なお他種の油脂の不けん化物組成と米ヌカ油の不けん化物組成とを比較してつぎの結果をえた。

3.1 米ヌカ油と他の油脂との不けん化物組成の比較

Table 7 の米ヌカ油とトウモロコシ胚芽(ホワイト種)油との脂肪酸組成の比較ではよう素価でトウモロコシ胚芽油が僅かに高い場合について見るとオレイン酸とリノール酸の含有率の逆の割合が見られるが, 全体として類似点が多い。

Table 6 U.S.M. Compositions of Overseas Rice Bran Oils.⁸⁾

Exp. No.	Component Bran produced country	Hydro-carbon & Alcohol	-Sterols			Cyclo-artanol	Cyclo-artenol	24-meth-ylene cycloart-anol	Cyclo-branol	others
			Campe-	Stigma-	β-sito					
1	Pakistan (IRRI-6)	17~23	17	4	17~20	3	4~5	29~32	1	3(ret. 53 min)
2	" (Basmati)	10~18	—(10~21)—	—	—(27~29)—	—	5~8	—(28~32)—	—	3(ret. 53 min)
3	U.S.A. (produced in Texas)	7	14	7	26	5	16	25	?	not analysed
4	" (produced in California)	7~11	14	7	25	7	15	24	1	
5	Burma	3~	13	6	27	7	8	—(35)—	—	
6	Australia	10	12	7	24	6	19	22	trace	
7	Indonesia	8.8	—(17.4)—	—	33.3	10.2	—	26.0	3.8	
8	Japan	14~15	16~17	6	26	7	12~13	16~17	3	1(ret. 53 min)

Table 7 Fatty acid Composition of Rice bran & Corn Oil. (GLC)

	C ₁₆₋₀	C ₁₈₋₀	C ₁₈₋₁	C ₁₈₋₃	C ₁₈₋₃	C ₂₀₋₀	C ₂₀₋₁	
Rice bran Oil	14.5	1.2	44.2	37.8	0.4	1.0	0.6	(IV=106)
Corn germ Oil	12.3	1.6	39.9	45.2	0.3	0.7	—	(IV=112)

Table 8 U.S.M. composition of R.B. Oil & Other Cereal Oils. (GLC)

U.S.M. Oils	hydrocar- bon etc.	Campe.	Stigma.	β -sito.	Cycloal- tanol	Cyclo- altenol	24-methy- lene- Cyclo- altanol	Cyclo- branol
Rice bran Oil	1.2%	15.5%	5.7%	25.7%	6.6%	12.7%	16.5%	2.6%
Corn germ Oil	0	(—27.1—)		(—70.2—)		1.5	?	0
Wheat germ Oil	4	19	0	56	11	0	6	?
Pearl barey germ Oil	3	15	9	72	← 4 →			

これに対して不けん化物の組成を示す Table 8 と Fig. 2 について米ヌカ油とトウモロコシ胚芽油とを比較すると、GLC のチャートのパターンとして見ても炭化水素等の保持時間を示す物質では米ヌカ油が特徴のある多くのピークをもっている。またトリテルペンアルコールやステロールの領域ではトウモロコシ胚芽油で顕著なピークを示したのはカンペステロールと β -シトステロールが主である。

従って不けん化物の GLC パターンの比較により、穀物油脂としてもっとも米ヌカ油に近いトウモロコシ胚芽油を米ヌカ油と見別けることができる。

E. Fedeli et al.¹⁾ は1966年に植物油脂のトリテルペンアルコールとステロールとの比較による鑑別法について報告している。18種類の植物油脂の不けん化物の TLC によるトリテルペンアルコールとステロールとの分離をし

ているが、その一部を示すと Table 9 のようなデータを与えている。

またトリテルペンとステロールとをそれぞれ GLC で成分をしらべて成分 (components) の数を検出している。そして成分数から見てステロールは β -シトステロール、カンペステロール、スチグマステロールなど8種のうち、各油脂では3成分程度しか含まない。

このためステロールだけを対象として油脂鑑別をすることは、トリテルペンの十数種類のうち5~13成分をそれぞれもっていることからこれを鑑別の対象とするのに比べてより効果が小さいと見ている。すなわちトリテルペンアルコールの GLC カーブは任意の2種類の油脂について正確に合致することは皆無であると言う。

米ヌカ油とトウモロコシ胚芽油との不けん化物中のステロールの種類は彼の測定の範囲では β -シトステロー

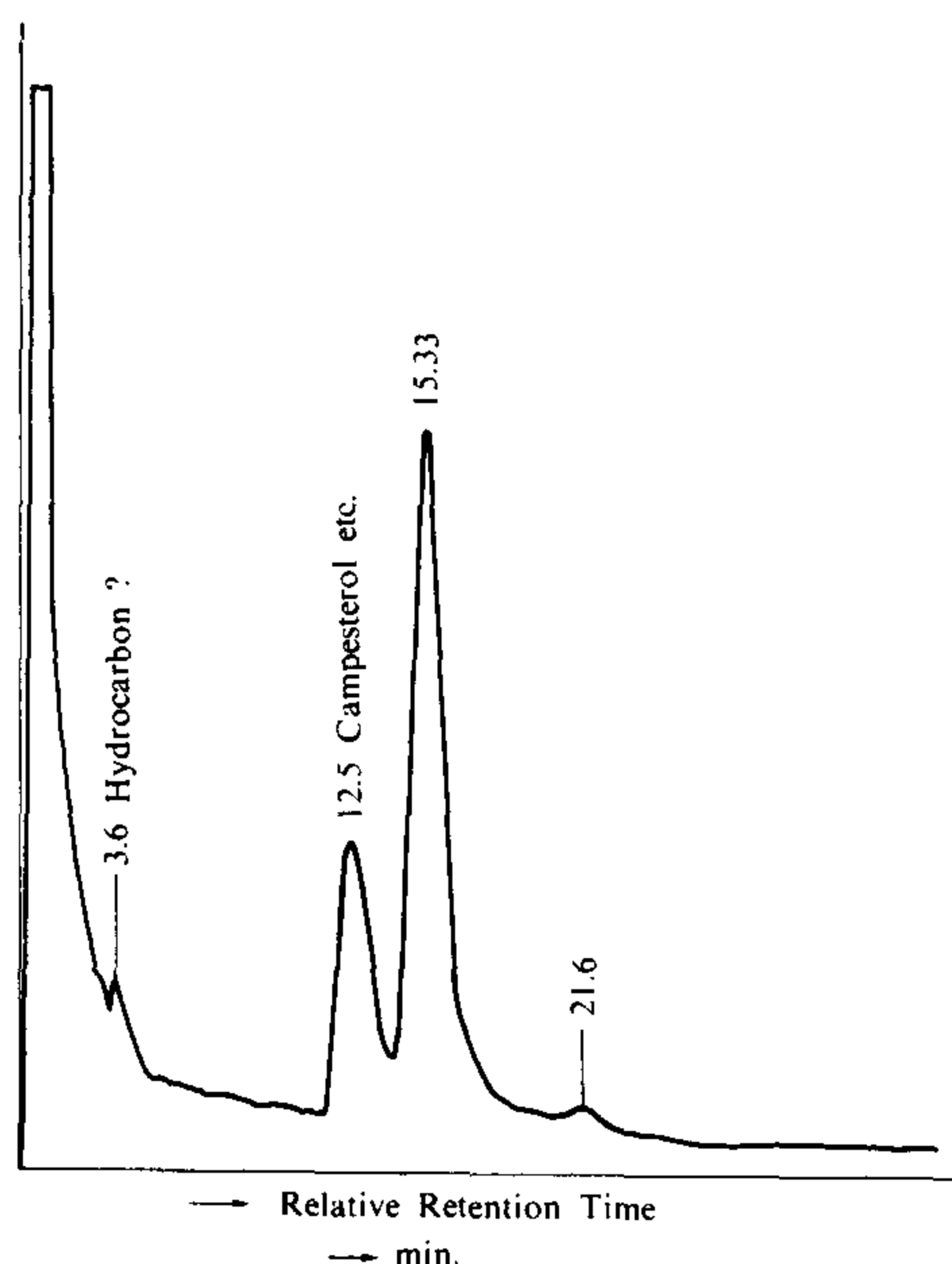


Fig. 2-A Corn Germ Oil USM, GLC

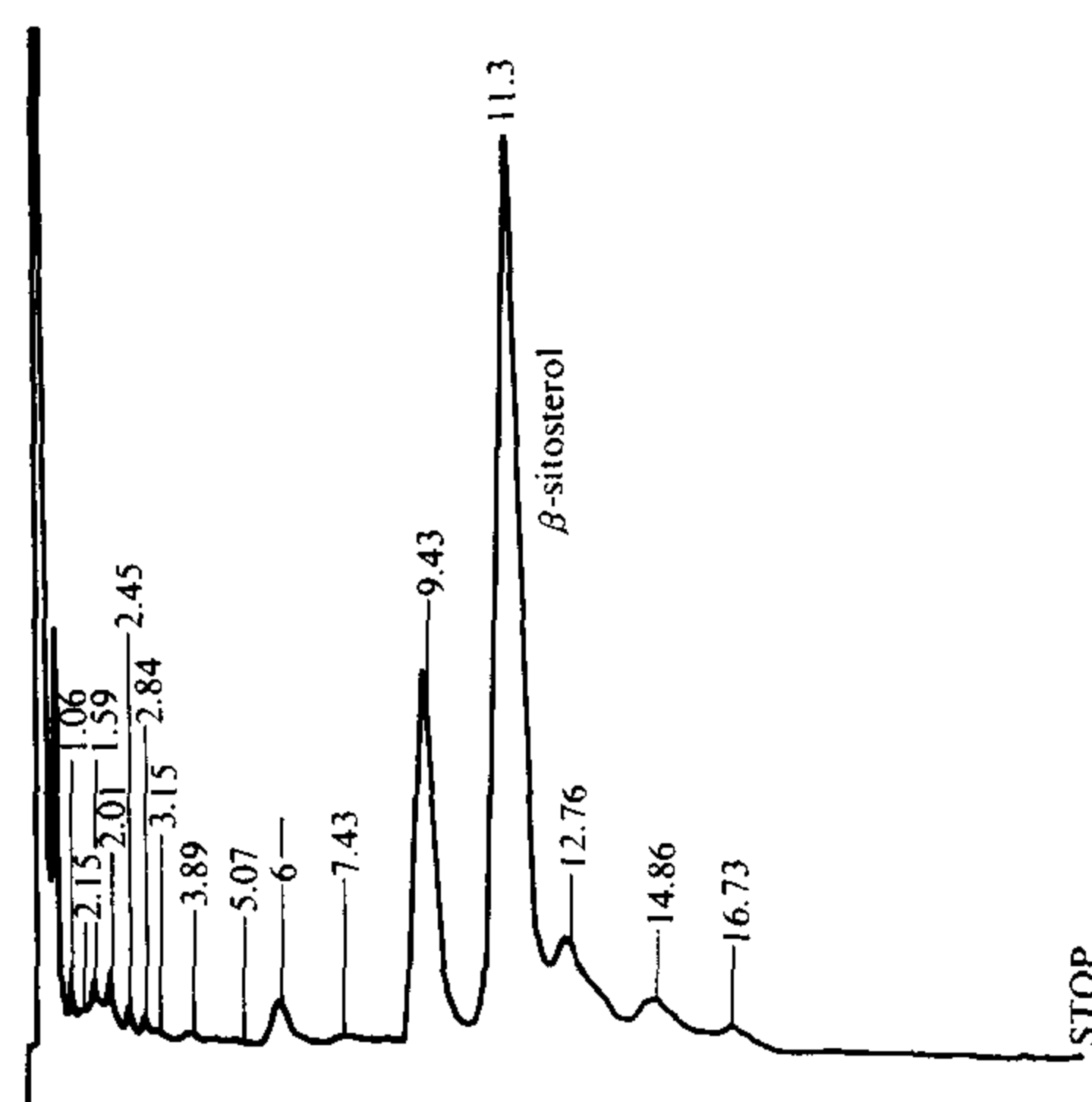


Table 9 Terpene and Sterol Fractions from Vegetable Oil Unsaponifiables(% of Oil)¹⁾

Oil kind	Neutralized unsaponifiables	Triterpenes	Sterols
Rice bran	0.8	0.1 (5 components)	0.4 (3 components)
Corn germ	2.3	0.11(9)	1.38(3)
Rape seed	0.8	0.03(13)	0.59(3)
Soybean	0.7	0.06(7)	0.42(3)

ル, スチグマステロールおよびカンペステロールの三者が共通であった。一方トリテルペンアルコールについては, 24-メチレンシクロアルタノール, シクロアルテノール, シクロアルタノールおよび β -アミリンについては共通に存在したが, 米ヌカ油(トリテルペン5種含有)にだけ含まれるもの1成分, トウモロコシ胚芽油(トリペルテン9種含有)にだけ含まれて米ヌカ油には含まれないもの5成分を挙げている。

しかし著者の見解によれば, 炭化水素や脂肪属の高級アルコールなどのGLCにおける相対保持時間とステロール類, トリテルペンアルコール類とのそれとは一定の差をもっているのでこの三者をTLCで分画しないままGLCカーブのパターンを比較して米ヌカ油の鑑別をすることはFedeliの方法とほとんど同等かそれ以上の成果を得ることができる。しかも手順がより簡単である。

4. 結 論

米ヌカ油の鑑別法として, 不けん化物のガスクロマトグラムのパターンで, 炭化水素や脂肪属アルコールなどの相対保持時間の小さいフラクションから, 最も保持時間のながいトリテルペンアルコールのフラクションまで全パターンの比較により十分に目的が達しられる。なおシクロブラノールは米ヌカ油に特徴的に含まれるテルペンと見られるが, 化学処理によって増減する性質があるので鑑別に際してはこの点も勘案せねばならない。

謝辞: 本報告作成にあたりご指導を頂いた恩師土屋知太郎博士に謝意を表します。

(原稿受理 昭和59年9月30日)

引 用 文 献

- 1) E. Fedeli, A. Lanzani, P. Capella and G. Jacini: J. Amer. Oil Chemists' Soc. **43**, 254 (1966).
- 2) Y. Takeshita and Osamu Ōkubo: Transactions of the Kokushikan Univ. Dept. of Engineering. No. **14**, p. 20 (1981).
- 3) Thomas K. Miwa: Yukagaku **27**, 650 (1978).
- 4) T. Itoh, T. Tamura, T. Matsumoto et P. Dupaigne: Fruits, **30**, (11), 687 (1978), "Etudeo sur L'huile d'avocado, en particulier sur le fraction stérolique de L'insaponifiable"
- 5) 日本油化学協会: "基準油脂分析法増補改訂版"(丸善)(1984).
- 6) 竹下安日児: 町田芳章鑑別法委員長あて私信(1983. 3. 10).
- 7) 竹下安日児, 吉田治郎, 谷奥正迪, 池永俊一: 国土館大・工・紀要**12**, 43 (1979), "米ヌカ油工業におけるG.L.Cの新しい応用, 第3報 溶剤抽出条件と原油の性状".
- 8) 竹下安日児, 吉田治郎, M. Y. Raie: "Global Trend of Fat Resource and Oil Technology", 同上紀要**14**, 92 (1981).
- 9) Y. Takeshita: "Nutritive character and quality preservation in Rice germ oil", Soc. for the Study of Food Ouality Preservation, (June, 1981).
- 10) 兼松弘, 松本太郎: 日本食品工業学会誌**24**, (6), 300 (1977) "食用油脂の精製加工工程におけるステロールの挙動について"
- 11) 竹下安日児, 吉田治郎: "米ヌカ油不けん化物の精製工程における消長について", 日本油化学協会討論会講演(広島大学)(1973年10月).
- 12) T. Itoh et al.: "Sterol composition of 19 Veg. Oils" Yukagaku **50**, (4) 822 (1973).
- 13) 吉田治郎, 竹下安日児: 国土館大, 工, 紀要 **16**, 185 (1983). "はとむぎの脂質"